S 10

Omaggio dell'a.

Istituto Sieroterapico Milanese

SULLE ANEMIE

PRODOTTE DAI

SIERI EMOLITICI

Ricerche sperimentali

PEL

DOTT. AMEDEO CAGNOLA

MILANO
TIPOGRAFIA PIETRO AGNELLI
Via Pietro Verri, 16
1903

A spese della Reale Società Italiana d'igiene.

Estratto dal *Giornale della Reale Società Italiana d' Igiene*, N. 4, 1903

Nel luglio 1898 Belfanti e Carbone facevano noti i risultati di alcune loro ricerche, secondo le quali il siero di coniglio iniettato nel peritoneo del cavallo conferiva al sangue di quest'ultimo un alto potere tossico contro il coniglio stesso. Bastavano pochi cmc. di questo siero per provocarne rapidamente la morte. Per altro essi tacquero sulla natura del tossico.

Bordet, trasportando in questo nuovo campo gli studi già da esso intrapresi sulle proprietà agglutinanti e bactericide del siero di animali vaccinati contro il vibrione colerigeno (come da Pfeiffer e Gruber era stato primamente dimostrato per altri microrganismi), potè qualche tempo dopo raccoglierne i frutti in una pubblicazione, che veniva ad attribuire all' emolisi quel potere tossico, sulla natura del quale Belfanti e Carbone non si erano ancora pronunciati. Il sangue di coniglio è normalmente poco o punto tossico per i globuli rossi della cavia. Al contrario il siero di cavia, al quale si inietta preventivamente sangue di coniglio, produce rapidamente l'emolisi e l'agglutinamento delle emazie del coniglio. Questa azione, che Bordet verificò *in vitro*, si mostra nettamente specifica. Il siero di cavia inoculato con

del sangue di coniglio non discioglie che le emazie del coniglio e l' esperienza fatta con altri animali e altri sangui conferma questa elettività. L' esplicazione della tossicità di questi sieri era pertanto trovata; il siero emolitico distrugge i globuli del coniglio nel suo corpo come fa *in vitro*.

Questa scoperta interessante, piena d'analogia coi fenomeni osservati nell' immunizzazione contro gli agenti microbici, ricevette in seguito numerose conferme.

A cose avvenute è lecito pensare che se Belfanti e Carbone avessero esperito nel coniglio la dose minima mortale del siero tossico da essi primamente prodotto, avrebbero senz'altro trovato nel modo stesso di soccombere dell'animale la chiave del fenomeno, che qualche tempo dopo Bordet rinvenne sperimentando in vitro. Nel lavoro di Belfanti e Carbone è riferito infatti che l'animale poco dopo la fatta iniezione di siero gettava un grido, si contorceva in movimenti convulsi e quindi soccombeva; ciò accadendo per il prevalere del potere tossico, nella eccessiva dose di siero adoperato, sul potere emolitico del medesimo. Ma quando l' esperimento potè essere disciplinato e si adoperarono dosi minime dello stesso siero tossico allora si osservò che il coniglio non moriva nel termine di 1-2 ore ma entro 3-7 giorni, presentando nel frattempo i sintomi evidenti di un anemia gravissima che dallo scolorimento delle mucose arrivava all' ematuria. Queste cose mi correva il dovere di ricordare, perchè, malgrado la lamentata lacuna nelle esperienze di Belfanti e Carbone, tuttavia il loro lavoro fu, per consenso degli stessi autori francesi, il fondamento sul quale venne innalzato il recente e meraviglioso edificio degli studi sui veleni cellulari.

Dopo il lavoro di Bordet altri seguirono sullo stesso argomento; ma in nessuno è fatto cenno di una comunicazione che il Prof. Zenoni faceva alla R. accademia di medicina di Torino nella seduta del 14 luglio 1889; dalla quale si rileva che l'A. oltre ad avere confermato il fatto, la prima volta enunciato da Belfanti e Carbone, così per il cavallo come per l'asino immunizzati verso il coniglio mediante ripetute iniezioni di sangue defibrinato nel peritoneo, trovò che iniettando questi sieri tossici direttamente nelle vene del coniglio alla dose di uno o più cmc. (talora anche meno di un cmc.) si provoca una forma acutis-

sima di grave anemia, il cui significato è pieno d'interesse per la patogenesi delle anemie primarie come per l'ematologia. La comunicazione prosegue descrivendo il quadro tipico di questa anemia sperimentale osservata nei conigli e i primi risultati delle indagini anotomo-patologiche, promettendo nel lavoro originale un più ampio svolgimento della parte istologica e chimica riguardante l'azione di questi sieri tossici agglutinanti ed emolitici.

Era questa pertanto la prima volta che in grembo ad un consesso scientifico si enunciava il novissimo fatto (poichè da nessuno ancora rilevato) di sieri anemizzanti, aventi la facoltà di riprodurre sperimentalmente nel coniglio il quadro clinico ed anatomo-patologico dell'anemia perniciosa. Si sapeva per altro che i sieri di taluni animali posseggono già normalmente un potere tossico per animali di specie diversa (Bordet-Zenoni).

Il presente lavoro si allaccia alla suddetta comunicazione, come risulta dalla seguente frase che vi è inserita: « Della parte relativa alle numerose osservazioni cito-ed emometriche è stato incaricato il Dr. Cagnola. » Era necessario che io esumassi codesta circostanza di fatto, perchè su di essa poggia la ragione principale di questa pubblicazione, venuta, a dir vero, alquanto in ritardo, quando cioè un altro lavoro della stessa natura sembra averne sfrondato ogni interesse.

Era naturale infatti che, una volta lanciati sopra questo ordine di idee e confermata l'azione emolitica di questi sieri, si pensasse ad indagare il comportamento e a studiare la natura delle lesioni da essi prodotte nel sistema sanguigno degli animali d'esperimento. Sta di fatto che un anno dopo la comunicazione del Dr. Zenoni apparve sugli annali dell'Istituto Pasteur un lavoro del Cantacuzène, eseguito nel laboratorio di Metchnikoff, nel quale è riferita una serie di ricerche ematologiche atte a fissare e ad illustrare la reazione suscitata nel sangue dalla presenza in esso dei veleni introdottivi coi sieri emolitici. Ma poichè anche in questo lavoro non vi è ombra di accenno alla comunicazione del Dr. Zenoni e tanto meno alle annunciate mie ricerche era giusto che io pensassi quandochessia a stabilire la priorità delle medesime.

Tuttavia avrei rinunciato anche a questo legittimo compia-

cimento se non avessi la convinzione che, anche dopo la monografia del Cantacuzène, una parte di interesse è ancora riservata alle mie ricerche. In verità le nostre osservazioni, benchè portate nel medesimo campo e sul medesimo oggetto, procedono con differente mira. Quelle del Cantacuzène sono sopratutto intese a scoprire il vario modo di comportarsi del sangue col variare le dosi del tossico iniettatovi e a trarre illazioni da questo ordine di fatti; le mie invece ebbero per principale oggetto di studiare le intime alterazioni prodotte nei varî elementi costitutivi del sangue, per assurgere a stabilire la natura dell'anemia prodotta dai sieri emolitici. Un'altra e più importante differenza esiste fra le ricerche del Cantacuzène e le mie, come si vedrà più innanzi dal confronto delle stesse.

L'importanza di questi studî non è chi non vegga. È lecito dire, dopo il già fatto, che essi apersero nuovi orizzonti alla patologia, la quale attende dai medesimi la soluzione di ardui problemi, finora affidata al debole sostegno di ipotesi più o meno plausibili.

Ma quello che più importa sapere si è che già venne tentata l'applicazione delle nuove dottrine alla terapia. Il quale tentativo benchè non abbia ancora fornito dei risultati molto sicuri, tuttavia per altre ragioni ha determinato ricerche non prive d'interesse.

Dalle esperienze ricordate del Cantacuzène risulta che l'emotossina iniettata in forte dose produce la morte o una grande anemia, della quale l'animale si rimette a poco a poco; iniettata invece a piccole dosi sembra stimoli notevolmente la funzione degli organi ematopoietici, aumentando il tipo globulare ed emoglobinico e provocando una notevole leucocitosi polinucleare. Rilevando questo fatto non posso a meno di metterlo in confronto con quanto era già stato da me stabilito in altre ricerche sulla crasi sanguigna degli ozenatosi curati col trattamento sieroterapico.

Da queste mie ricerche, affidate a un precedente lavoro, risulta che il siero antidifterico, il quale adoperato a dosi alte agisce come un veleno emolitico, introdotto invece sotto cute ai pazienti a dosi refratte di due a tre cmc. pro die reca un beneficio alla crasi sanguigna, della quale aumenta coi globuli bianchi anche i rossi, mantenendo elevato il tasso emoglobinico.

Qualunque sia il rapporto tra il siero antidifterico e il siero emotossico, il fatto meritava di essere ricordato.

Secondo le ricerche di Besredka anche il siero leucotossico opportunamente propinato può agire stimolando il sistema leucocitario. Il concetto da cui era partito il Metchnikoff preparando il suo primo siero leucotossico era quello di combattere col suo mezzo i leucociti mononucleati, macrofagi, i grandi responsabili (secondo il fondatore della teoria della leucocitosi) di un tipo di processi di atrofia, a cominciare da quelle che caratterizzano l'involuzione senile, nella quale (sempre secondo il patologo russo) non dobbiamo riconoscere un avvenimento naturale e regolare, bensì precoce ed anormale. Il siero fallì allo scopo, esso si mostrò attivo, come constatò anche Funk, contro ogni specie di leucociti, contro i buoni come contro i dannosi per l'economia. Besredka iniettandone piccole dosi nel peritoneo riusciva a provocarvi una enorme immigrazione di leucociti mononucleari; il sangue circolante presentava pure una marcata leucocitosi.

Metchnikoff, ravvisando in questi fatti una iperattività degli elementi cellulari determinata dalle citotossine corrispondenti, non esitò a trasportare queste ricerche nella terapia umana, valendosi dei lebbrosi ai quali iniettava piccole dosi di un siero emolitico preparato dalla capra. L'effetto utile che si potè subito constatare fu un grande miglioramento della crasi sanguigna, specialmente riguardo al numero delle emazie. Il siero di sangue degli ammalati così trattati dopo un qualche tempo diventava antiemolitico. Questi risultati confermarono quelli ottenuti, sperimentando sugli animali, da Cartacagine.

Lucatello ha voluto fare un passo più in là e portare la questione del valore emopoietico delle piccole di emolisina nell'unico campo dove può venire risolta, in quello delle anemie.

I suoi risultati clinici non sono dissimili da quelli sperimentali del Cantacuzène; il miglioramento della crasi sanguigna riguarda piuttosto il numero delle emazie che il tasso emoglobinico. Metchnikoff aveva pure verificato la stessa cosa nei lebbrosi trattati con una emotossina, e Cantacuzène aveva anche notato che l'aumento del numero dei globuli rossi durava molto più a lungo di quello dell'emoglobina. Tali fatti si potrebbero interpretare come una prova in favore della teoria del Riva,

della indipendenza quasi assoluta delle funzioni citogenetica ed emoglobinogenica.

Non spenderò tempo, dopo tutto il parlare che se ne è fatto sui giornali e sulle riviste scientifiche, per spiegare il significato che oggi si attribuisce alla parola *emotossina* o *emolisina* secondo i concetti di Bordet, di Ehrlich e Morgenroth. Tuttavia prima di passare alle mie esperienze piacemi ricordare le principali opinioni che oggi si contrastano il campo nella scienza per spiegare il modo di agire dell' emolisi sul globulo rosso. È universalmente nota l' esperienza di Ehrlich e Morgenroth. Se noi prendiamo il siero di un animale A e lo priviamo della sua citosi, riscaldandolo a 55°, e lo mettiamo a contatto colle emazie di un animale B di specie diversa possiamo constatare che non lo dissolve. Decantiamo, laviamo più volte le emazie con soluzione fisiologica, mescoliamole a siero di animale nuovo e vedremo la globulolisi avvenire rapidamente. La sostanza sensibilizzatrice del siero era dunque passata a fissarsi tenacemente alle emazie e potè essere riattivata anche dopo replicati lavaggi.

D' altra parte il siero decantato messo a contatto con del nuovo sangue non acquista proprietà emolitica sulle emazie di B e ciò vuol dire che non contiene più sostanza sensibilizzatrice. Questa è rimasta tutta quanta fissata alle prime emazie. L' esperienza ora enunciata prova luminosamente che una delle due sostanze, la sostanza intermediaria si fissa tenacemente alle emazie. Quanto all'intimo meccanismo per cui la cosa si compie, gli autori tedeschi credono che si possa facilmente interpretare sulla guida della teoria proposta dallo stesso Ehrlich a spiegazione dei fenomeni di immunità e che va sotto il nome di « *teoria delle catene collaterali* ». La sostanza intermediaria per sè non riesce a sciogliere i globuli, ma vi si fissa tenacemente: Essa ha dunque una forte affinità specifica verso certi elementi del protoplasma dell' emazia, ai quali si combina. Questa sostanza possederebbe in certa maniera due catene autoctone; con una di queste si fisserebbe all'emazia, con l'altra contrarrebbe delle combinazioni colla sostanza complementare, coll' alessina presente in ogni siero. L' alessina in questa maniera può contrarre rapporto coll'emazia, penetrarvi e procedere alla sua dissoluzione. I fenomeni di emolisi che ne seguono furono già da Buchner paragonati ai fenomeni di digestione. Ehrlich e Morgenroth

non si scostano da questo concetto e collocano senz'altro l'alessina fra i fermenti digestivi.

La scuola francese, con Bordet alla testa dissente non poco dall'opinione di Ehrlich e Morgenroth. Egli conferma che la sostanza sensibilizzatrice si fissa alla emazia. Con ricerche particolari potè anzi accertarsi che è lo stroma e non un altro elemento della cellula che opera questa fissazione; ma non crede di avere dati sufficienti per ammettere che le due sostanze contraggano fra di loro o con l'emazia delle combinazioni chimiche di qualsiasi natura. La sostanza sensibilizzatrice agisce come il mordente in tintoria, che prepara il tessuto all'azione del colore; esso non fa altro che modificare il globulo rosso in modo che la citosi vi abbia più facile presa.

Fra le altre interpretazioni messe avanti a spiegare i fenomeni dell'emolisi, è anche da ricordarsi quella di Nolf, il quale spiega ogni cosa sulla guida di nozioni di fisico-chimica. L'azione della citosi sul globulo rosso è paragonabile all' azione dissolvente che hanno alcuni sali introdotti nel globulo rosso. Essa fa sentire sopra di lui la sua azione inglobante con la conseguenza della diffusione dell' emoglobina.

Non credo utile insistere più a lungo sopra questo punto che si riferisce alla natura e al meccanismo intimo d' azione dell' emolisina. La questione è ancora aperta e il dissenso fra ricercatori di tanto valore non può destare meraviglia, tenuto conto delle difficoltà delle indagini e della natura dei fenomeni, i quali devono essere tanto complessi nella loro essenza quanto sono o almeno sembrano semplici nelle loro estrinsecazioni.

Le mie esperienze vennero eseguite sul coniglio, iniettando nella vena marginale del padiglione di questo animale dosi piccolissime di un siero ottenuto inoculando ad un asino del sangue defibrinato di coniglio. Il sangue di coniglio, nello stato di salute dell'animale, contiene in media circa 5.000.000 di emazie per mllm.^{3} Non vi si trovano che raramente dei globuli rossi nucleati; questi elementi sono un po' più piccoli di un' ordinaria emazia; il loro stroma si colora in rosso vivo coll'eosina; essi contengono un piccolo nucleo, sovente posto eccentricamente e colorantesi con intensità coi colori basici. Sempre in via di normalità il sangue di coniglio contiene un certo numero di piccoli elementi rotondi, pallidi, di 2-3 μ di diametro, da Hayem dise-

gnati col nome di ematoblasti. Il numero di leucociti varia in media da 7000 a 8000 per mllm.³ Il tasso emoglobinico è di 90 % in media quando si prenda la cifra 100 come valore medio del sangue umano.

Mi sono servito del Fleisch per gli esami emoglobinometrici e del Thoma Zeiss per la numerazione dei globuli rossi e bianchi. Le ricerche istologiche nel sangue vennero fatte su preparati fissati secondo il metodo di Nikiforoff, oppure secondo quello di Ehrlich e quindi colorati con eosina e azzurro di metilene ovvero con ematossilina ed eosina.

La quantità di siero inoculata in ciascun coniglio fu di 1 cmc.³ Ho già avuto occasione di ricordare che bastava questa piccolissima quantità di tossico per provocare nel coniglio una forma acutissima di grave anemia L'animale così intossicato cominciava a presentare pallore delle mucose visibili e a perdere la sua vivacità; quindi emetteva con le deiezioni dei fiocchi di muco e colle urine emoglobina e sangue. In breve questo veniva a perdere il suo colore e la densità normale per farsi assai pallido e tenue. A seconda delle dose di tossico la morte dell'animale seguiva rapidissimamente ovvero poche ore dopo l'iniezione, proceduta da collasso e ipotermia, ovvero entro pochi giorni.

Quanto al *reperto anatomo-patologico,* poichè su di esso ebbe già a riferire il Dr. Zenoni nella citata comunicazione, io non farò che riprodurre dalla stessa quanto ci interessa di sapere. Al tavolo anatomico, adunque, si riscontrava quanto segue: Grande pallore di tutta la musculatura; il sangue nei vasi è fluido e scolorito a guisa di lavatura di carne; all'aria si rapprende dapprima in una massa molle gelatinosa, la quale cede prontamente una parte liquida molto tenue, rosea.

Il cuore destro è per lo più disteso da coaguli misti o bianchi, costituiti da grossi agglomerati di piastrine e di lencociti. Il miocardio è al pari dei muscoli scolorito, flaccido, sfiancato, mentre per contrasto sembra viva la tinta dei polmoni; nelle cavità sierose delle pleure, del peritoneo e del pericardio trovasi contenuta una certa quantità di liquido rossigno. I reni spiccano per la loro pallidezza e per un certo grado di edema; meno pallidi invece si presentano il fegato e la milza. Nell'intestino si nota la mucosa pallida, iniettata di catarro e un grande assottiglia-

mento con lacerabilità delle pareti intestinali. Non di rado si ha il reperto di emorragie intramuscolari. Il midollo delle ossa è costantemente arrossato, gelatinoso, con i caratteri del midollo funzionante, e molto spesso appare chiazzato da aree emorragiche. Anche all'esame istologico si riscontrano delle alterazioni molto caratteristiche, le quali consistono essenzialmente in una profonda anemia di tutti gli organi e in una grande distruzione di globuli rossi, di cui si trovano detriti e granuli di pigmento in varie parti. In taluni casi speciali i reni presentano i canalicoli zaffati da cilindri rossi granulosi, provenienti da globuli disfatti; mentre gli epitelî renali sono talora colpiti da degenerazione adiposa.

Il midollo osseo in ispecial modo è sede di una grande distruzione e di emazie e ad un tempo di un attiva reazione emopoietica, la quale però si effettua in modo incompleto e insufficiente.

Coniglio N. 18.

2 luglio 1898. — Iniezione di 1 cmc. di siero.

Data	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
4 luglio '98	22	1638000	6500	1:210
5 »	30	2881000	6200	1:330
6 »	25	2328000	6500	1:358
7 »	37	2525000	6800	1:371
9 »	50	3500000	7300	1:479
11 »	50	4220000	13500	1:313
14 »	53	3450000	10300	1:395
16 »	55	4360000	5300	1:822
19 »	55	4280000	7200	1:538

Il giorno 20 il coniglio venne trovato morto nella sua gabbia.

Coniglio N. 11.

2 luglio 1898. — Iniezione di 1 cc.³ di siero.

Data	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
4 luglio '98	15	1280000	14900	1:86
5 »	12	1960000	13000	1:150

Il giorno 6 il coniglio morì tra le 12 e le 13.

Coniglio N. 44.

2 luglio 1898. — Iniezione di 1 cc.³ di siero.

Data	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
4 luglio '98	10	1320000	19600	1:68
5 »	15	1380000	20400	1:68
6 »	13	1360000	14000	1:97
7 »	25	1941000	15100	1:129
9 »	35	3115000	20100	1:154
11 »	30	2925000	6600	1:443

Il giorno 12 il coniglio è morto alle ore 12.

Coniglio N. 47.

2 luglio 1898. — Iniezione di 1 cc.³ di siero.

Data	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
4 luglio '98	23	1440000	7200	1:200
5 »	25	1602000	6800	1:282
6 »	50	3020000	12300	1:244
7 »	50	3530000	12600	1:280
9 »	45	3760000	11400	1:328
11 »	53	4840000	21300	1:165
14 »	55	4360000	12800	1:341
16 »	63	4780000	23400	1:204
19 »	65	4935000	22000	1:276
2 Agosto	65	4980000	23400	1:212

Coniglio N. 42.

Coniglio di pelo grigio del peso di grammi 1900.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
8 luglio '98	—	86	4370000	9300	1 : 460
10 »	P. 26 : 340 Rp. 364000 Iniezione di 1 cc.³ di siero	80	4760000	8700	1 : 548
12 »	P. 42 : 289 Rp. 672525	77	4580000	16000	1 : 286
14 »	Peso gr. 1800 T. 39,8 (ore 13) P. 136 : 168 Rp. 1703571	45	2005000	8200	1 : 256
15 »	Peso gr. 1800 T. 40,2 (ore 13 ½) P. 160 : 226 Rp. 1426654	35	2015000	16400	1 : 122
19 »	—	50	3810000	14700	1 : 259
22 »	—	65	3990000	9800	1 : 407
25 »	—	65	5000000	11800	1 : 423

Coniglio N. 42.

14 luglio 1898. — Macro-e microcitosi spiccatissima. Mancanza di pile globulari. Molti eritrociti sono in varia guisa deformati riproducendo le più strane forme ameboidi. In parecchi campi microscopici vi ha diffusione della sostanza colorante dei globuli rossi all'infuori dei medesimi, cosicchè parecchi leucociti ne sono imbevuti ed hanno assunto una colorazione rosea. Si notano qua e là dei globuli rossi nucleati (eritroblasti), e qualche preparato riuscito felicemente ne offre ad un tempo parecchi esemplari; la massima parte sono *normoblasti* dal nucleo rotondeggiante, centrale, di aspetto vellutato e dal protoplasma intensamente colorato in roseo, di struttura omogenea, risplendente ed a contorni smussi. Frammezzo a queste forme normali ve ne hanno altre nelle quali il nucleo spicca per la ineguaglianza della sua colorazione.

La cromatina, anzichè essere distribuita uniformemente nello stroma nucleare vi è raccolta ad ammassi: la struttura del nucleo è per tal modo assai alterato; nel suo contesto si alternano spazi chiari e spazi intensamente colorati, cui corrispondono rispettivamente zone assottigliate e zone ispessite.

Si direbbero nuclei in cariorexi, nei quali il processo di frammentazione si è incompletamente effettuato: difatti attraverso alle infossature chiare che solcano il corpo nucleare è in qualche punto ancora visibile il reticolo che ne forma l'impalcatura.

In altre forme il nucleo spicca oltrechè per la vivacità e intensità del colorito, anche per piccolezza delle sue dimensioni. Occupa una posizione più o meno centrale entro un corpo protoplasmatico omogeneo, lucente d'un roseo vivace, ma scarso; cosicchè l'intiero globulo appare di proporzioni nane. I bordi così del nucleo come del plasma sono netti, smussi e la loro forma è in tutti casi più o meno rotondeggiante. Sono queste le forme dette *microblastiche* in omaggio alla scarsezza del contenuto cellulare.

Rilevo per ultimo nn normoblasta dal nucleo a biscotto, prossimo a frammentarsi in due masse, e nel quale la sostanza colorante è in preda a cromatorexi.

I leucociti si presentano in numero considerevole e con una grande varietà di forma sopratutto rispetto al nucleo. In maggior numero si riscontrano le forme polinucleate, con nuclei polimorfi a scarsa cromatina, protoplasma tenue, globoso.

Fra i mononucleati risaltano alcuni elementi grandi, con nucleo assai grosso, pallido, spesso reniforme.

15 luglio. — Scelgo uno tra i preparati meglio riusciti e faccio i seguenti rilievi:

Due normoblasti a protoplasma rotondeggiante con bordi smussi, regolari, bene ed omogeneamente colorato; nucleo pure di forma circolare, di colorito bleu foncè e senza disuguaglianze cromatiche.

Altro normoblasta a contorni irregolari, con nucleo situato eccentricamente in un plasma di color roseo e sbiadito: la superficie del nucleo appare come bernoccoluta ed i margini si presentano frastagliati: la massa nucleare è poco compatta e manifesta la tendenza a dividersi in frammenti: la cromatina ha già iniziata la divisione essendo distribuita senza alcuna uniformità nello stroma nucleare.

Un eritoblasta di dimensioni superiori alla norma, il cui nucleo presenta dei caratteri non ancora osservati negli altri campi microscopici. Esso ha l'aspetto di un corpo vescicoloso, disteso e assottigliato, occupante buona parte del corpo cellulare. L'impalcatura del

nucleo pare abbia subito un processo di rarefazione; essa traspare come un fine reticolo sopra un fondo azzurro pallido: anche la cromatina quindi è in preda a un processo di dissolvimento (cromatolisi), il quale sembra per altro evolversi nell'interno del nucleo, non essendo peranco alterata la struttura e la colorazione acidofila elettiva del corpo cellulare.

Grande varietà di leucociti, con larga rappresentanza di forme mononucleate a nucleo grosso, polimorfo, di aspetto vescicoloso ovvero infossato, debolmente tingibile. Non si riscontrano cellule eosinofile.

18 luglio. — Esiste ancora in grado leggero la mancanza di uniformità nella dimensione e nel colorito dei globuli rossi.

Eritroblasti si riscontrano ancora nei varî preparati; non però in numero così elevato come nell'esame praticato il giorno 15. Delle forme normoblastiche alcune vanno rimarcate per le particolarità relative al nucleo e riflettenti la ineguaglianza di distribuzione della cromatina e la tendenza del nucleo alla spartizione (cromatorexi con cariorexi).

Un microblasta di forma quasi triangolare ad angoli smussi presenta un nucleo piccolissimo, granuloso, mentre il plasma conserva tuttora una tinta rosea distinta.

25 luglio. — Reperto normale del sangue.

Coniglio N. 67.

Coniglio grigio del peso di grammi 1650.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
21 luglio '98	—	85	5930000	13900	1 : 433
22 »	Iniezione di 1 cc.³ di siero	85	6015000	11300	1 : 502
23 »	—	35	3675000	25700	1 : 164
24 »	Peso gr. 1590 T. 39,7	30	3400000	28200	1 : 122
26 »	—	15	2210000	23000	1 : 85
28 »	Peso gr. 1400 T. 40,2	12	1040000	9800	1 : 108

Il giorno 30 il coniglio venne trovato morto nella sua gabbia.

Coniglio N. 67.

22 luglio 1898. — Reperto normale del sangue. Eguaglianza di forma degli eritrociti; la più parte dei quali sono addensati a pila. Uniformità di tinta dei medesimi.

Tra le diverse forme di leucociti rilevasi una cellula eosinofila.

23 luglio. — La più grande varietà di forma e di colorazione dei globuli rossi. Spiccano, nella bizzarria dei loro contorni i poichilociti. I globuli sono qua e là raggruppati in ammassi; manca però la caratteristica disposizione a pila, usa ad osservarsi nel sangue normale.

Gli eritroblasti mostransi in numero assai scarso. Ogni preparato non ne fornisce più di due o tre esemplari. La più parte sono *normoblasti* e si presentano coi caratteri fisiologici di codesti elementi. Uno solo di essi merita rilievo per la qualità del nucleo che è grosso, irregolarmente ovale, di colorito intensamente azzurro ma non uniforme, e collocato attraverso il plasma a guisa di ameba inglobata nel corpo di un fagocito.

La leucocitosi si manifesta qui con una quantità di forme d'ogni tipo, tra le quali notansi parecchie cellule eosinofile a grosse granulazioni splendenti di un bel color rosso e parecchi mielociti dal nucleo gigante a struttura tenue scarso di icromatina ed a contorni indecisi quasi evanescenti.

26 luglio. — Sangue estremamente pallido, di aspetto sieroso. All' esame dei preparati si nota l'assoluta assenza di pile globulari e la grande variabilità di dimensione, di forma e di colorito degli eritrociti.

Di essi alcuni appaiono più grossi del normale, mentre altri spiccano per la notevole riduzione del loro volume e per la vivacità del loro colorito. Vi hanno in copia elementi profondamente alterati nel loro contorno, dal quale si dipartono in varie direzioni e nelle più strane foggie dei prolungamenti che li fanno paragonare a leucociti fissati nel più vivace e bizzarro atteggiamento della loro facoltà ameboidea. Lo scoloramento in alcuni eritrociti arriva a tal segno che essi si distinguono per l'appunto come bolle chiare, leggermente rosee in un atmosfera di un roseo più interno; evidentemente la sostanza colorante ha abbandonato il globulo e si è diffusa all'ingiro.

Il reperto degli *eritroblasti* è qui vario e molteplice. Fra gli elementi nucleati aventi caratteri di normalità cadono in osservazione qua e là nei vari preparati parecchie altre forme, nelle quali le im-

pronte del contenuto globulare si scostano talmente da quelle fin qui rilevate, da rendere quasi incerta la loro classificazione tra le forme nucleate degli eritrociti, se non esistessero i caratteri propri e inconfondibili della sostanza protoplasmatica.

Di codeste alterazioni alcune riguardano la struttura e la colorazione del nucleo, altre interessano il plasma cellulare e sono comuni ai diversi tipi di eritroblasti. Noto:

Un normoblasta, il cui nucleo ha l'aspetto di un corpo granuloso, come se la sostanza cromatica avesse subito una specie di sbriciolamento. Accanto a questa forma ne esistono altre nelle quali il processo di disintegrazione (cariorexi) si manifesta ne' suoi stadi iniziali, cioè colla irregolarità del contorno, tutto sporgenze e insenature, e colla ineguale distribuzione della cromatina nell'area occupata del nucleo.

Il plasma globulare in tutti codesti casi si presenta di struttura omogenea e uniformemente tinto in roseo dall'eosina. In altri invece è più o meno modificata anche la tingibilità propria della sostanza plasmatica.

Osservo un eritroblasta con nucleo in avanzata cariorexi, avente l'aspetto di una massa azzurra irregolare a contorni poco marcati, nella quale fanno risalto parecchi blocchetti densi, opachi di cromatina, mentre il corpo cellulare appare perifericamente cosparso di granulazioni basofile, tinte in azzurro dall'ematosillina.

In un'altra forma il processo di cariolisi intra ed extra-globulare è ancora più progredito. Il nucleo è ridotto ad una nubecola sfumata ai margini e circondata da un alone di sostanza protoplasmatica di un colore incerto fra il roseo e il lilla, in cui è rilevabile una minuta e fine punteggiatura bluastra. Si tratta, a mio avviso, di un eritroblasta policromatofilo con avanzata cariolisi.

In un altra forma, che per le dimensioni appartiene ai microblasti, i residui del nucleo sono rappresentati da tre piccoli frammenti situati nella porzione centrale del globulo e avvolti da un atmosfera a tinta basica, mentre il resto del corpo cellulare appare sotto la forma di una striscia di un roseo ancora distinto accerchiante il globulo.

I leucociti sono abbondantemente disseminati in tutti i campi microscopici e in alcuni di essi persino raccolti a gruppi. Sonvi tutte le varietà, comprese le cellule eosinofile.

Coniglio N. 54.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emo-globina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rap-porto
25 luglio '98	—	65	4735000	9500	1 : 498
27 »	Iniezione di 1 cc.³ di siero, ore 9	65	5100000	5400	1 : 593
28 »	—	60	4075000	7300	1 : 558
29 »	—	43	4025000	9000	1 : 447
1 agosto	P. 93 : 212 Rp. 989552	26	2245000	9300	1 : 241
4 »	—	13	1420000	12100	1 : 138
6 »	—	25	2150000	12000	1 : 245
9 »	—	35	2900000	9700	1 : 340

Il coniglio soccombette il giorno 11.

Coniglio N. 54.

30 luglio 1898. — Si riscontrano in modico grado le alterazioni relative alla forma e alla alterazione degli eritrociti. Nei due preparati di sangue fatti in codesto giorno si riesce a rilevare appena *due forme normoblastiche.*

4 agosto. — Forma e colorazione dei globuli rossi scompigliate in massimo grado. Delle preparazioni riferentesi all' esame d' oggi una sola è riuscita tecnicamente felice. In essa si rileva la presenza di *due normoblasti e di un microblasta* non degni di particolare descrizione perchè offrenti i caratteri comuni a cotali elementi.

Mi soffermo invece a notare la particolarità di struttura di due *eritroblasti,* che io assegnerei per le dimensioni alla *varietà gigante.* Sono due grossi globuli con nucleo pure grosso e variamente alterato nelle sue qualità fisico-chimiche. In un caso si presenta di aspetto vescicoloso, pallido, invadente quasi tutto il corpo globulare, il cui citoplasma è ridotto a un piccolo anello periferico. A tutta prima si sarebbe incerti a giudicare della natura di codesto elemento, tanto è

la sua somiglianza con un mielocito, se non fosse il particolare aspetto di quell'anello plasmatico, la cui trasparenza, lucentezza ed omogeneità obbligano a classificarlo fra gli eritrociti nucleati.

L'altra forma di gigantoblasta offre un chiaro esempio di cariorexi con cromatolisi intranucleare. Il grosso nucleo à un contorno bernoccoluto, segnato da una linea bizzarra a prominenze e a infossature, entro la quale è contenuta una sostanza di aspetto cribrè: la cromatina si è già in parte disciolta nello stroma nucleare, diffondendovi un colore azzurro tenue, mentre il resto è raccolto in ammassi disaggregati, di colore bleu intenso, ancora trattenuti nelle esili maglie del reticolo nucleare.

In quanto alle forme leucocitarie non vi ha nulla che non sia stato già altrove notato.

Coniglio N. 29.

Coniglio di pelo rossiccio; peso grammi 1700.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
1 agosto '98	—	75	6010000	17000	1 : 352
2 »	P. 157 : 270 Rp. 341475	75	5565000	13800	1 : 410
3 »	Iniezione di 1 cc.³ di siero	—	—	—	—
4 »	—	30	3145000	14800	1 : 212
5 »	T. 39,6 Peso gr. 1600	14	1440000	20000	1 : 72
6 »	P. 90 : 151 Rp. 862960	16	1680000	13400	1 : 186
8 »	T. 39,8	25	2090000	9200	1 : 227
9 »	—	36	3660000	20000	1 : 183
13 »	T. 39,2 Peso gr. 1500	37	3510000	3900	1 : 891

Il giorno 14 il coniglio è morto tra le 14 e le 16.

Coniglio N. 29.

2 agosto 1898. — Reperto normale del sangue.

5-6 agosto. — Micro e macro-citosi in grado rilevante. Vi hanno numerosi globuli rossi piccolissimi, delle dimensioni di una testa di spillo, intensamente colorati, coi quali contrastano le forme macrocitiche. In alcuni campi microscopici prevalgono invece le alterazioni di forma dei globuli rossi, dalla cui superficie sembrano dipartirsi in ogni direzione numerosi pseudopi ramificati. Si direbbero prodotti artificiali, causati dallo schiacciamento del vetro coprioggetti, tanto lontano è la loro fisionomia da quella dei globuli normali.

I leucociti sono in tal numero che qua e là si presentano ad ammassi. Vi si notano polinucleati e mononucleati dai contorni polimorfi, grandi elementi simili ai mielociti e qualche cellula eosinofila.

Il reperto degli eritroblasti è interessante, meno per la quantità che per la varietà di forme, nelle quali sono rappresentati differenti gradi di metamorfosi regressiva della sostanza nucleare.

Nei numerosi preparati di sangue relativi a codesto caso mi limito a rilevare le forme che per codesto riguardo meritano un esame più dettagliato.

Esse sono:

Tre microblasti, di cui uno con nucleo periferico circondato da tre piccoli punti, i quali, per la loro somiglianza colla sostanza nucleare, vanno presumibilmente considerati come paranuclei.

Un nucleo si presenta libero nel campo microscopico frammezzo ai globuli rossi; all' ingiro però parmi ravvisare un alone d'un roseo pallido sfumato, probabilmente di natura plasmatica.

Due gigantoblasti dal nucleo grasso con incipiente cromatorexi intranucleare e rarefazione del reticolo nucleare: Uno di questi nuclei ha forma oblunga e poggia con un capo contro il contorno del globulo, sollevandolo in quel punto a guisa di cupola.

Un terzo elemento (normoblasta) parmi in preda ad un processo di cariolisi con metacromasia. Il nucleo piuttosto grande e mal circoscritto ha una tinta estremamente pallida picchiettata di punteggiature più scure; mentre il plasma appare omogeneamente colorato da un roseo sbiadito, con una nuance violetta.

Tra i normoblasti notò ancora parecchie forme in istato più o meno progredito di cromatorexi, che va dalla semplice irregolarità dei contorni alla divisione del nucleo in due o più frammenti. In altre forme il processo di cromatorexi si addiziona a quello di cariolisi intra ed extra-nucleare, e in quest'ultimo caso anche il protoplasma appare più o meno alterato nelle sue qualità cromatiche. Esso perde

la proprietà acidofila elettiva e manifesta, sia sotto forma di minuti granuli basofili, sia sotto l'aspetto di una gamma di colorazioni varianti dal roseo-azzurigno al lilla, l'attitudine a colorirsi coi colori proprii della sostanza nucleare.

9 agosto. — Macro e micro-citosi ancora chiara, benchè di molto scemata rispetto ai precedenti esami. Gli eritrociti normali prevalgono numericamente sulle forme patologiche.

Nei preparati fissati non si riesce a scoprire la presenza di *eritroblasti,* nè di *mielociti,* nè di *cellule eosinofile.*

Coniglio N. 78.

Coniglio nero. — Peso grammi 1700.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
6 agosto '98	Iniezione di 1 cc.³ di siero	75	5100000	14000	1 : 364
8 »	T. 40,8	30	2615000	12000	1 : 204
9 »	—	22	2500000	11700	1 : 213
11 »	—	15	1170000	31200	1 : 34
13 »	T. 39,7 Peso gr. 1350	26	1635000	11400	1 : 144
16 »	—	35	2820000	9400	1 : 300

Il giorno 18 il coniglio è morto in istato di profonda cachessia.

Coniglio N. 78.

Giorni 11 e 14 agosto 1898. — Per non ripetere osservazioni e rilievi già fatti per altri casi mi limito ad osservare in via sintetica che l'esame istologico dei preparati di sangue di codesto coniglio, riferentisi ai predetti due giorni, ha confermato la presenza in essi di numerose forme eritroblastiche, quali più quali meno alterate, nel senso di un maggiore o minore grado di disgregazione dello stroma e della sostanza cromatica nucleare e di una più o meno profonda alterazione delle proprietà tingibili normali del protoplasma. Non mancano le rappresentanze delle diverse forme eritroblastiche e tra

gli elementi leucocitarî riscontransi alcuni che alle grandi dimensioni, al nucleo a grosse maglie occupante quasi tutto il corpo del globulo si ravvisano per mielociti.

Coniglio N. 60.

Coniglio di pelo rosso bruciato. — Pesa grammi 1500.
6 settembre 1898. — Iniezione, ore 17.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emo-globina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rap-porto
7 settem. '98	T. 40,1	75	5140000	15800	1 : 326
9 »	—	75	5410000	7500	1 : 720
12 »	—	80	—	—	—

9 settembre 1898. — Aspetto normale degli eritrociti. Disposizione a pila in parecchi campi. Leucociti di tutte le varietà, comprese le cellule eosinofile in numero discreto.

Si riscontra *un solo normoblasto* nei due preparati di sangue eseguiti oggi, aventi nucleo circolare intensamente e uniformemente colorato, protoplasma omogeneo, a contorni netti, rotondeggianti tinto d'un roseo vivace.

Coniglio N. 41.

Peso grammi 1500.
6 settembre 1898. — Iniezione ore 16.

Data	Piastrine Temp. e Peso	Emo-globina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rap-porto
7 settem. '98	T. 39,7	48	4560000	8300	1 : 549
9 »	—	47	4795000	16000	1 : 300
12 »	Peso gr. 1500	52	5100000	15700	1 : 365

9 settembre 1898. — Nulla di notevole nei caratteri morfologici degli elementi sanguigni. Si nota appena in qualche punto una leggiera diffusione della colorazione attorno ai globuli rossi.

Si riscontrano *due soli normoblasti* bene conservati nell'esame delle tre migliori preparazioni.

Coniglio N. 37.

Peso grammi 1300.

10 settembre 1898, mattina. — Iniezione, ore 17

Data	Emoglobina	Globuli rossi	Globuli bianchi	Rapporto
10 settem. '98 sera	85	5600000	6700	1:834
12 settem. '98	80	5270000	9800	1:537
14 »	78	5100000	6600	1:772

Nei diversi esami istituiti sul sangue di codesto coniglio, nei giorni *12* e *14*, non ho trovato nulla che potesse avere una significazione patologica o che in qualche modo si scostasse dai reperti di un sangue normale

Le mie esperienze si possono dividere in 3 gruppi: 1.° Quelle nelle quali il siero iniettato, per la sua debolissima azione, non riuscì a produrre che alterazioni poco apprezzabili nel sistema sanguigno (conigli N.ri 60-41-37); 2.° Quelle nelle quali l'azione tossica si esplicò in modo grave, ma non tale da cagionare la morte (conigli N.ri 47-42); 3.° Infine quelle nelle quali si ebbe l'evoluzione di una forma di anemia gravissima che causò il più grande scompiglio degli elementi costitutivi del sangue e nel periodo di pochi giorni condusse a morte l'animale. È indubitato che questa differenza di risultati deve essere messa in rapporto col diverso grado di tossicità del siero che ha servito ai singoli esperimenti.

Qui mi corre il dovere di ricordare che le mie esperienze risalgono a tre anni fa, quando cioè si era ancora completamente al buio intorno ai fenomeni che hanno poi dato luogo alla dottrina dei sieri tossici. Per la produzione di questi sieri, la quale è ora disciplinata da conoscenze sicure e da norme esatte, si andava allora a tastoni, ed io ricordo la fatica che si ebbe a sostenere quando, esaurita la prima scorta di siero emotossico, si dovette raccogliere le file del primo esperimento per una nuova produzione di materiale velenoso. Anche la interpretazione dei fatti emolitici era allora circondata dal mistero.

Il siero emolitico che ha servito alle mie esperienze proveniva da un cavallo iniettato da Belfanti e Carbone con sangue di coniglio, per il loro studio sui sangui eterogenei. Era quindi naturale che di fronte ad una novità assoluta di fenomeni la spiegazione dei medesimi non si presentasse allora tanto ovvia; cosichè essi pensavano ad attribuire ad una tossina pneumococcica, eventualmente contenuta in quel siero, quel potere che le indagini successive dimostrarono essere il frutto di un ben diverso ordine di fatti. Solo in prosieguo si ottenne la padronanza del fenomeno e si potè a volontà ripeterne la prova e ricavare sieri emotossici di tutte le gradazioni. Le mie esperienze riflettono pertanto la incertezza di questo primo stato delle cose. Tuttavia essa non rimane priva di ammaestramento, perchè ci mette in grado di valutare la diversa reazione suscitata nella crasi sanguigna della diversa tossicità dei sieri eterogenei in essa circolanti.

Il maggiore interesse però nei risultati delle mie esperienze si aduna nel terzo gruppo delle medesime e concerne la natura dei fatti ematici che noi vi abbiamo riscontrato. In questo gruppo noi assistiamo al ripetersi costante dei seguenti fenomeni. Qualche tempo dopo l'iniezione si produce una diminuzione del numero delle emazie, che in capo a 1-2 settimane, raggiunge il massimo. Se in questo frattempo si esamina il sangue al microscopio si constata che in mezzo alle emazie normali numerosissimi globuli rossi sono circondati da un aureola diffusa colorata in rosa dall'eosina. Lo stroma dell'emazia lascia in tal guisa sfuggire il suo contenuto sotto forma di goccioline che si diffondono poi nel mezzo ambiente. Altre emazie, pur serbando il colore, si presentano alterate nella loro forma, secondo le foggie più bizzarre, raggruppate a caso senza alcun accenno alla nota disposizione a pile dei globuli normali. Accanto a questi elementi in via di distruzione altri ne appaiono che vennero detti *ematoblasti* in rapporto alla funzione cui si crede siano destinati. Di questi noi riscontrammo le diverse varietà nei differenti stadi della loro evoluzione, ed usammo ogni diligenza nel rilevarne le intime particolarità di struttura, perchè ad essi si connette la parte più importante delle nostre osservazioni. Nello stesso tempo che si opera la deglobulizzazione si produce una

caduta brusca nel titolo dell' emoglobina, che in alcuni casi arriva all' infimo grado di 10 %. Da questo bassissimo livello incomincia poi un movimento d' ascesa tanto nell'emoglobina quanto nei globuli rossi, ma la riparazione non è che illusoria, perchè a un certo punto della stessa *segue la morte dell'animale.*

Fin dal principio di questo processo di anemia vi ha notevole leucocitosi; la cifra dei leucociti si eleva in un caso a 31.200 per millm.^{3}. Vi ha sempre notevole prevalenza delle forme polinucleate. Di rado si ebbe opportunità di rilevare la presenza di cellule eosinofile. La massima varietà di forme e il massimo numero di eritroblasti coincide collo stato di massima anemia.

Questo andamento è visibile a colpo d' occhio nelle curve grafiche che furono tracciate per alcuni casi tipici.

Confrontando ora le mie osservazioni con quelle del Cantacuzène rilevo un fatto che viene a stabilire una differenza sostanziale tra le forme d'anemia determinate dai sieri che rispettivamente hanno servito alle nostre esperienze. Invero gli effetti dal Cantacuzène notati come conseguenza delle iniezioni di siero emotossico nei conigli, sono di tre ordini: 1.° La morte rapidissima, talora istantanea per dosi forti di siero; 2.° Uno stimolo alla emopesi per dosi piccole del siero stesso; 3.° Per dosi medie infine una grave anemia, *non mai però seguita dalla morte dell'animale, bensì dal graduale e completo ristabilirsi della crasi sanguigna.* Questo ultimo fatto è in evidente contrasto con quello da me rilevato nelle forme appartenenti al terzo gruppo delle mie esperienze. Resta pertanto aperta la questione sul significato da darsi a questa differenza di risultati.

L' esito letale, la natura dei fatti ematici osservati e le risultanze dell'esame anatomo-patologico ci obbligano ad ascrivere l'anemia determinata dai sieri tossici da me usati tra le forme perniciose. Da questo punto di vista noi possiamo considerare il nostro lavoro come un contributo sperimentale a questa gravissima tra le malattie del sangue, anzi come il primo contributo dal quale sia rilevabile il fatto di sieri deglobulizzanti, capaci di riprodurre sperimentalmente nel coniglio il quadro clinico ed anatomo-patologico dell'anemia perniciosa progressiva.

Astraendo dalle alterazioni da cui vedemmo colpiti gli elementi costitutivi normali del sangue noi dobbiamo fissare la

nostra attenzione sopra quelle riguardanti gli *eritroblasti.* È noto che l'emopoesi nei vertebrati inferiori si fa in tutta la massa sanguigna; epperò si trovano in essi eritroblasti circolanti in ogni epoca della vita. Da osservazioni fatte risulta che questi eritroblasti circolanti presentano perfetta corrispondenza di caratteri con quelli esistenti nel midollo osseo normale, sia nella forma e grandezza che nella tingibilità. I caratteri di normalità di questi elementi rigeneratori delle emazie rientrano nel seguente schema: contorno circolare o leggermente angoloso; protoplasma omogeneo alquanto splendente, uniformemente e intensamente colorabile; mai si osservano granulazioni nel protoplasma, non cromosomi, nè paranuclei; non si trovano mai figure cariomitotiche. In condizioni molto alterate del sangue, come in caso di gravi malattie, in istati discrasici ecc., gli eritroblastici (come tutti gli elementi istologici del sangue) devono risentire delle influenze lesive che disturbano principalmente l' equilibrio tra l' emoglobina del corpuscolo e l'ambiente. In condizioni abnormi infatti gli eritroblasti circolanti si differenziano per varî caratteri da quelli ordinarî che si riscontrano in anemie acute traumatiche, oppure sperimentalmente. Questa varietà di caratteri noi abbiamo avuto campo di osservare nella lunga serie delle nostre indagini, come risulta dalla relazione dettagliata che ne abbiamo fatta. Le alterazioni degenerative degli eritroblasti colpiscono le singole parti costitutive di questi elementi, così da alterarne considerevolmente la fisionomia. Da un punto di vista sintetico noi possiamo riassumere così i fatti osservati:

La *forma* degli eritroblasti è ora sferica, ovalare, ora allungata, poliedrica, lamellare, a contorni irregolari, sinuosi, ondulati, accartocciati.

Quanto alla *grandezza* vi hanno molte differenze, presentandosi eritroblasti di grandezza normale (normoblasti) o inferiore alla norma (microblasti secondo Ehrlich, Pappenheim) o molto più grandi (megaloblasti, gigantoblasti di Ehrlich); sul significato dei quali ultimi elementi regna tuttora viva discrepanza di giudizî fra i più eminenti ematologi.

Anche per il *contenuto emoglobinico* noi vedemmo gli eritroblasti circolanti differenziarsi fra di loro, osservandosi forme più pallide o più colorite del normale.

Inoltre si presenta pure varia la loro tingibilità (acidofila) rispetto all'eosina. Secondo quanto era già stato rilevato da altri autori nelle gravi anemie (Ehrlich, Gabritschewski, Askanazy, Troje, Maragliano, Cabot, Klein, Lazarus) noi pure osservammo la così detta *proprietà policromatofila* dello stroma globulare. Questo cioè perde la proprietà della colorazione elettiva e prende a seconda delle miscele usate due fino a tre colori o diffusamente o anche a strie e punti, specialmente nella sua parte centrale.

Notevoli pure apparvero nei molteplici nostri esami le variazioni del *nucleo*. In luogo di essere globoso, uniformemente tinto si presenta talora a contorni irregolari, simile a cifra otto, a trifoglio, a rosetta (Askanazy, Wertheim, Epstein); in alcuni casi è assai piccolo e intensamente colorato (*picnosi* di Pfitzner); in altri invece è meno densa la cromatina, oppure questa appare irregolarmente distribuita nel nucleo, assumendo i più svariati atteggiamenti di forma e di colore (cariorexi, cromatolisi, metacromasia). A questi fenomeni di metamorfosi nucleare si annette una delle questioni più dibattute. La teoria di Rindfleisch, Cohnheim, Bizozzero, Engel ed altri ammette che la maturazione degli eritroblasti abbia luogo mediante l'abbandono del nucleo, che diventa libero. Molti altri invece (Neumann, Kölliker, Foà, Osler, Mondino, Sala, Israel, Pappenheim, Arnold) ritengono che la scomparsa del nucleo abbia luogo dentro il globulo stesso (distruzione endocellulare). Non è mia intenzione entrare nel cuore di queste controversie, tanto più che, nelle osservazioni da me fatte, le modificazioni nucleari degli eritroblasti ritengo debbano considerarsi come forme patologiche di metamorfosi regressiva influenzate da condizioni morbose sia nella rigenerazione che nella composizione del sangue. È noto che l'alterata composizione del siero provoca sulle cellule sanguigne particolari alterazioni fisiche e chimiche che ne diminuiscono la resistenza. Sperimentalmente (iniezioni intravascolari, trasfusioni, sostanze medicamentose, tossiche, bruciature ecc.), si possono produrre alterazioni di origine artificiale.

L'emoglobina si dissolve non solo nell'acqua, ma anche nel siero. Ciò permette di pensare che essa sia trattenuta nel globulo per una unione intima con una materia organizzata

albuminoide e che esiste un equilibrio tra l'emoglobina e l'ambiente. La mancanza di questo equilibrio spiegherebbe le immense variazioni di aspetto e di colorazione che subiscono gli elementi formati del sangue nelle intossicazioni.

Nell' anemia perniciosa fu primo il Quinke a mettere in rapporto colle alterazioni del siero l' alterazione polimorfa del contorno esterno dei globuli rossi. Ehrlich, Moraczewska, Birch-Hirsfeld ammettono l' alterata composizione del sangue coll' intervento di materie tossiche nel plasma sanguigno come momento causale della sua azione distruttrice sui globuli rossi. Questo importante momento della discrasia sanguigna nelle gravi anemie merita considerazione anche nei casi da me studiati in rapporto colle alterazioni degenerative degli eritroblasti. Nondimeno (osserva giustamente il Dr. Zenoni) esso non basta da solo a spiegare le forme cariolitiche, metacromasiche e nemmeno il fatto della relativa scarsità delle forme policromatofile in confronto di una causa che influenzi tutti quanti gli elementi cellulari del sangue. Infine lascia insoluto il fenomeno notato della presenza di eritroblasti ed eritrociti di aspetto normale accanto ad altri profondamenti alterati. È quindi verosimile che siano concomitanti altre cause disturbanti la normale evoluzione degli eritroblasti, per le quali giungerebbero in circolo degli elementi già normali e meno resistenti e questi risentirebbero più facilmente nell'ambiente circolatorio modificato le influenze lesive.

È noto che nel sangue abbiamo l' espressione, in certo modo l' effetto, dei processi della formazione del sangue nei rispettivi organi (midollo osseo, milza, ghiandole linfatiche). Ora è certo che nell'anemia perniciosa progressiva l'emopoesi non si compie come di norma, e che esistono alterazioni del midollo delle ossa e distruzione globulare. Secondo von Recklinghausen infatti l'essenza dell'anemia perniciosa consiste in un eccesso di distruzione del sangue e in uno scompiglio nella preparazione dello stesso. Da uno studio anatomo-patologico di Van Der Strickt sul midollo osseo nell' anemia perniciosa progressiva risulta un difetto di formazione dei globuli rossi e di distruzione dei nuclei liberi. Le alterazioni degenerative endoglobulari degli eritroblasti nell'anemia perniciosa progressiva trovano pertanto la loro ragione d' essere tanto nelle condizioni anormali dell'emopoesi, quanto in quelle del siero sanguigno.

Dal complesso dei dati ematologici e di quelli anatomo-istologici riferentisi ai casi da noi studiati non vi ha dubbio trattarsi in essi di vera anemia perniciosa. La distruzione globulare infatti ci è dimostrata nel midollo specialmente, come pure nella milza e nel fegato sia dalla presenza di numerose cellule globuliferi e pigmentifere, sia dalla grande quantità di pigmento e da moltissimi eritrociti ed eritroblasti in degenerazione e da globuli bianchi alterati. Come condizione principale deglobulizzante del sangue figurerebbe la tossicità del siero iniettatovi. Epperò la dimostrazione che noi abbiamo data di sieri tossici anemizzanti e alteranti la coagulazione del sangue, mentre avvalora l'origine dell'anemia perniciosa da cause tossiche agenti sul plasma sanguigno, è una conferma del meccanismo di distruzione e di incompleta riparazione del sangue, che è caratteristico dell'anemia perniciosa.

Bibliografia.

Belfanti e Carbone. — Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogeneo. *Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino*, 1898.

Zenoni. — Di una nuova forma di anemia sperimentale da sieri tossici. Comunicazione fatta alla R. Accademia di Medicina di Torino nella seduta del 14 luglio 1899.

Zenoni. — Delle alterazioni degenerative degli eritroblasti nell'anemia perniciosa, con osservazioni sul significato e sui caratteri degli eritroblasti nel sangue circolante in condizioni normali e patologiche. *Policlinico*, vol. V, M. 1898.

Zenoni. — Alterazioni nel sistema ghiandolare linfatico dovute a sieri eterogenei. *Gazzetta medica di Torino*, 1898.

Cantacuzène. — Sur les variations quantitatives et qualitatives des globules rouges provoquées chez le lapin par les injections de serum hémolytique. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1900.

Besredka. — La leucotoxine et son action sur le système leucocytaire. *Ann. de l'I. P.*, 1900.

Metchnikoff et Besredka. — Recherches sur l'action de l'hémotoxine sur l'horme. *Ann. de l'I. P.*, 1900.

Cagnola. — La crasi sanguigna e l'economia generale degli ozenatosi curati col trattamento sieroterapico. *Annali del congresso della società otorinolaringologica.* Roma, 1899.

Bordet. — Les leucocytes et les proprietés actives du serum chez les vacinés. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892.

Frankel. — Ueber di Sclartz inpierung. Morburg, 1895.

METCHNIKOFF. — Sur la distruction extracellulaire des bacteries dans l'organisme. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1895.
FRANKEL und SOBERNHEIM. — *Hygienische Rundschau*, 1890.
GRUBER. — Eine neue methode zur raschen Erkmming des cholera vibrio und der typhus bacillend Munch. M. W., 1896.
GRUBER. — Active un passive immunität geglu cholera und Thiphus en Wien. *Klin. W.*, 1896.
BORDET. — Sur le mode d'action des serums preventifs. *Ann. de l'I. P.*, 1896.
BORDET. — Sur l'agglutination des globules rouges par le sang. *Ann. de l'Inst. Pasteur*. 1898.
METCHNIKOFF. — Sur les cytotoxines. *Ann. de l'I. P.*, 1900.
ERHLICH e MORGENROTH. — Zur theorie der Aysinwikung. *Berliner Klin. Woch.*, 1899.
NOLF. — Contribution à l'etude des serums antihemotiques. *Ann. de l'I. P.*, 1900.
NOLF. — Globulolyse et pression osmotique. Ibidem., 1900.
NOLF. — Le meccanisme de la globulolyse. Ibidem., 1900.
METCHNIKOFF. — Etude sur la resorption des cellules. *Ann. de l'I. P.*, 1899.
BORDET. — Agglutination et dessolution des globules rouges par le sérum. *Ann. de l'I. P.*, 1899.
CHEPAWALNIKOFF. — Les poissons cellulaires. *Revue generale des sciences*, 1901.
ERHLICH c MORGENROTH. — Ueber haemolysine. *Berl. Klin. Woch.*, 1899.
BORDET. — Les serums hemolytique, leurs antitoxine. *Ann. de l'I. P.*, 1900.
METCHNIKOFF. — Sur la spermatoxine et antispermatoxine. *Ann. de l'I. P.*, 1900.
LANDSTEINER. — Zurkenutniss der specifiz auf. Blutkorperchen wirkenden sera. *Chbl. f. Bakt.* ecc., 1899.
MORXTER. — Ueber em. spezifische immunserum zegen spermatozooen. *Deut. M. W.*, 1900.
FUNK. — Dans antileucocytare Serum. *Chbl. f. Batkt.*, XXVII.
LINDEMANN. — Sur le mode d'action de certairy poissons rénales. *Ann. de l'I. P.*, 1900.
SCHÜTZE. — *Deut. M. Woch.*, n. 27.
DUNGERN. — Spezifisch Immunsercune geglu Epithel. *Munch Med. Woch.*, 1899.
DELEZENNE. — Serum nevratoxique. *Ann. de l'I. P.*, 1900.
ENRIQUES et SICCARD. — Société de Biologie. 3 nov' 1900.
NEFEDIEFF. — Les poissons cellulaires. *Revue generale des Sciences*, 1901.
MICHAELIS. — *Murinch. Med. Woch.*, 1900.
LEBLANC. — Contribution à l'etude de l'immunité acquise.

Anno XXV

Giornale della Reale Società Italiana d'Igiene

PUBBLICATO PER CURA DEL CONSIGLIO DIRETTIVO

Comitato di Redazione:

Dott. S. Belotti — Dott. C. Coggi — L. Frassi

Questo Giornale si pubblica una volta al mese, in numero doppio.

Il Giornale viene spedito *gratis* ai membri della Società che pagano la quota annua di L. 15. L'abbonamento annuo è di L. 12 per l'Italia; di L. 14 per l'estero.

Possono diventare membri effettivi della Società, medici, veterinari, farmacisti, ingegneri e tutti coloro che si occupano d'igiene pubblica. La nomina viene fatta dal Consiglio Direttivo su proposta di due soci.

Sede della Società e Redazione del Giornale:

10, Via S. Paolo — MILANO — Via S. Paolo, 10